

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(6)

(11)Publication number : 53-092729
(43)Date of publication of application : 15.08.1978

(51)Int.CI. C07C103/52
C07C103/52
C12D 13/06
C12D 13/06

(21)Application number : 52-007279 (71)Applicant : TOYO SODA MFG CO LTD
SAGAMI CHEM RES CENTER
(22)Date of filing : 27.01.1977 (72)Inventor : ISOWA YOSHIKAZU
OMORI MUNEKI
MORI KAORU
ICHIKAWA TETSUYA
NONAKA YUJI
KIHARA KEIICHI
KOYAMA KIYOTAKA
SATO HEIJIRO
NISHIMURA JITETSU

(54) ADDUCT OF DIPEPTIDE DERIVATIVES AND AMINO ACID DERIVATIVES AND PROCESS FOR THEIR PREPARATION

(57)Abstract:

PURPOSE: Adducts of dipeptide esters and aminocarboxylic acid esters [(R1 is aliphatic oxycarbonyl, nuclear substnd-benzyloxycarbonyl, etc.; R2 is methyl, isopropyl, etc.; R3 is lower alkoxy, benzyloxy, etc.; n is 1 or 2), e.g. adduct of Nbenzyloxycarbonyl-L-aspartyl-L-phenylalaninemethylester with L-phenylalaninemethylester.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨日本国特許庁
公開特許公報

①特許出願公開
昭53-92729

②Int. Cl.²
C 07 C 103/52
C 12 D 13/06

識別記号
101
103
105
107

③日本分類
16 C 64
16 B 651
36(2) D 35
36(2) D 251

庁内整理番号
7330-43
6956-43
7110-49
7110-49

④公開 昭和53年(1978)8月15日
発明の数 5
審査請求 未請求
(全22頁)

⑤ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

⑥特 願 昭52-7279
⑦出 願 昭52(1977)1月27日

⑧発明者 磯和義員
東京都世田谷区船橋2丁目20番
6号
同 大森宗樹
東京都豊島区雑司谷2丁目5番
9号
同 森馨
相模原市西大沼4丁目4番1号

⑨発明者 市川哲也
相模原市栄町3丁目16番地
野中悠次

同 木原啓一
新南陽市大字富田4560番地
小山清孝

同 新南陽市大字富田4560番地
佐藤平次郎

⑩出願人 東洋曹達工業株式会社
新南陽市大字富田4560番地
最終頁に続く

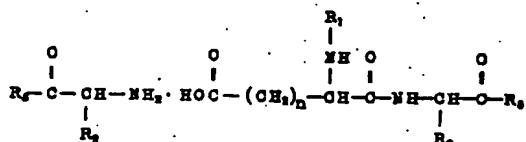
明細書の内容(内容に変更なし)
明細書

1.発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法。

2.特許請求の範囲

(1) 一般式

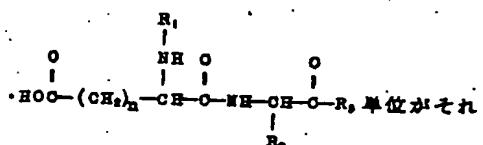
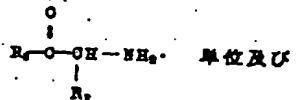


で表わされる化合物(式中R₁は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基、又は芳香族スルフィニル基であり、R₂はメチル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₃は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基であり、nは1又は2で

ある)で表わされる化合物。

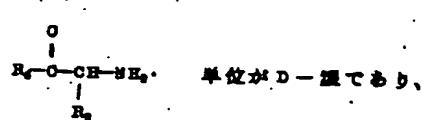
(2) R₄がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第1項記載の化合物。

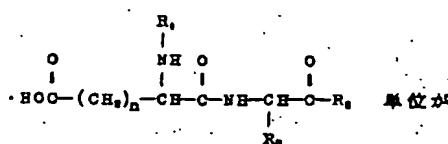
(3) 式中



それより上及びL-L型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

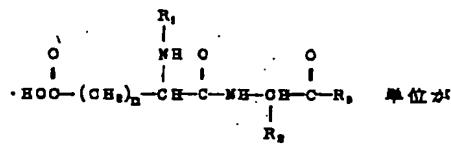
(4) 式中





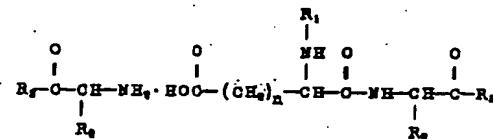
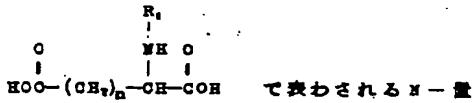
L-L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物

(ii) 式中



L-L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

(iii) 一般式



で表わされるジペプチドエスチルとアミノカルボン酸エスチルとの付加化合物（式中R₁、R₂、R₃及びヨは前記同様の意味である）の製造法。

(iv) R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、ヨが1である特許請求の範囲第6項記載の製造法。

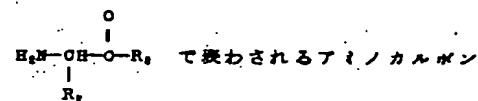
(v) 水性液体が水溶液である特許請求の範囲第6項又は第7項記載の製造法。

(vi) 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第6項乃至第8項のいずれかの項記載の製造法。

(vii) 反応をpH5乃至8で行う特許請求の範囲第6項乃至第7項記載の製造法。

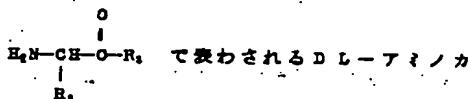
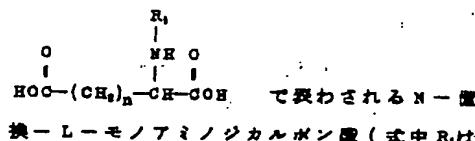
特開昭53-92729 (2)

換セノアミノジカルボン酸（式中R₁は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、ヨは1又は2である）と、一般式



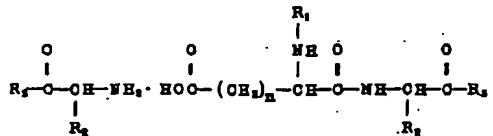
酸エスチル（式中R₁はメチル基、イソブロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₂は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基である）とを水性液体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、更に生成したジペプチドエスチルとアミノカルボン酸エスチルとの付加化合物を形成させ、これを分離することを特徴とする、一般式

(ii) 一般式



ルボン酸エスチル（式中R₁はメチル基、イソブロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₂は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基である）とを水性液体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、生成したL-L-型ジペプチドエスチルとロ-型又はル-型に富むアミノカ

ルボン酸エステルとの付加化合物を形成させて反応系より分離することを特徴とする、一般式



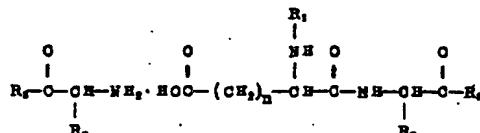
で表わされる L-L 型ジペプチドエステルと D-L 型又は D-D 型に富むアミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

4. R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基であり、n が 1 である特許請求の範囲第 11 項記載の製造法。

5. 水性液体が水溶液である特許請求の範囲第 11 項又は第 12 項記載の製造法。

6. 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 11 項乃至第 13 項のいずれかの項記載の製造法。

シ基である）とを水性液体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、生成した L-L-L 型ジペプチドエステルと L-L-L 型アミノカルボン酸エステルとの付加化合物を形成させて反応系より分離し、水性液体中よりヨー置換-D-L モノアミノジカルボン酸を回収することを特徴とする、一般式



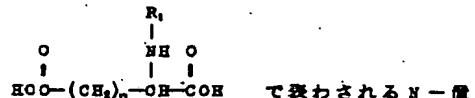
で表わされる L-L-L 型ジペプチドエステルと L-L-L 型アミノカルボン酸エステルとの付加化合物（式中 R₁, R₂, R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法。

4. R₁ がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂ がベンジル基であり、R₃ がメトキシ基であり n が 1 である特許請求の範囲第 16 項記載の製造法。

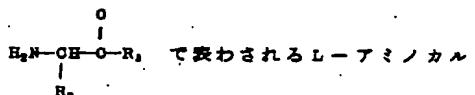
特開昭53-92729(3)

7. 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 11 項乃至第 14 項のいずれかの項記載の製造法。

8. 一般式



（式中 R₁ は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、n は 1 又は 2 である）と、一般式



（式中 R₂ はメチル基、イソブロビル基、イソブチル基、イソアミル基、又はベンジル基であり、R₂ は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基、又はベンズヒドリルオキ

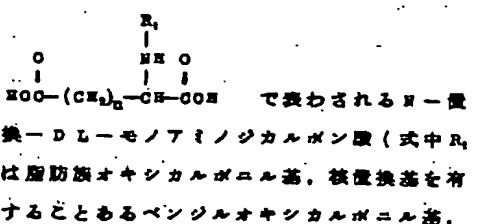
シ基である）とをモル比で 1:1 同量用いる特許請求の範囲第 16 項又は第 17 項記載の方法。

9. 水性液体が水溶液である特許請求の範囲第 16 項乃至第 18 項のいずれかの項記載の製造法。

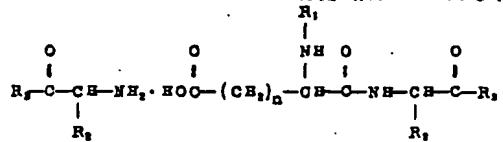
10. 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第 16 項乃至第 19 項のいずれかの項記載の製造法。

11. 反応を pH 5 乃至 8 で行なう特許請求の範囲第 16 項乃至第 20 項のいずれかの項記載の製造法。

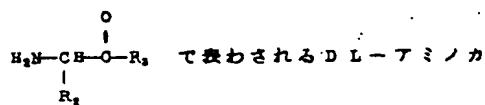
12. 一般式



特開昭53-92729(4)



ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、nは1又は2である)と、一般式



即ちR₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基でありnが1である特許請求の範囲第22項記載の製造法。

又DL-アミノカルボン酸エ斯特ルとモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第22項又は第23項記載の方法。

又水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第22項乃至第24項のいずれかの項記載の製造法。

又蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特

許請求の範囲第22項乃至第25項記載の製造法。

又反応をpH5乃至8で行なう特許請求の範囲第22項乃至第24項のいずれかの項記載の製造法。

3発明の詳細な説明

本発明はジペプチド導体とアミノ酸導体との新規な付加化合物及びその製造法に関するものであり、更に詳しくはヨー置換モノアミンジカルボン酸エ斯特ルとアミノカルボン酸エ斯特ルとのジペプチドにアミノカルボン酸の付加した新規な化合物、及びその製造法に関するものである。

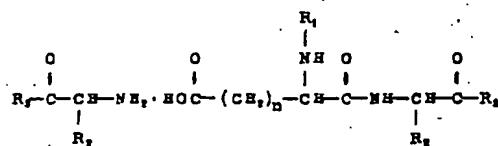
ババインやキモトリブシンの様な蛋白分解酵素が蛋白分解(ペプチド結合の切断)の逆反応であるペプチド結合の生成反応に関与し得ることは古くから知られている。例えばBergmanらはババインを用いてアミリドの合成を行なっている。またPrutonはアミノ基をベンゾイル基等で保護したロイシン等のモノアミノカルボン酸とカルボキシ

ル基をアミド又はアミニドとして保護したロイシンやグリシンを、ババインやキモトリブシンを用いてペプチド結合させ得ることを明らかにしている("Advances in Protein Chemistry," 第5巻, 33頁(1949), Academic Press Inc., New York, N.Y.)。最近では本発明者のうち穂和らがアミノ基をベンジルオキシカルボニル基で保護したアミノ酸とカルボキシル基をエステル化したアミノ酸とをババイン、ブロリシン、スブトリシンBPN^t等の酵素を用いてペプチド合成反応を行なつたことが報告されている(日本化学会第35秋期大会予稿集, 482頁及び484頁(1976), 日本化学会)。これらの方では生成物を採取するため、反応生成物が水溶性基を失つて水に不溶となり析出すること(これはペプチド生成反応を進行させるためにも必要である)ことを利用する。従つて生成物になら水溶性を保存する様な基が残る場合、例えば出発物質としてアスパラギン酸の様にα位に更にカルボキシル基がある場合には、この観点からもその様な基を保護基によつて保護

するのが好ましいと考えられていた。

本発明者らはこの様な系について深く考究した結果、アスパラギン酸やグルタミン酸の様なモノアミノジカルボン酸のアミノ基を保護した(日本特許第2729)ものを出発物質として用いるとジペプチド自体は析出しないが、相手側の出発物質、即ちカルボキシル基をエステル化したアミノ酸(アミノカルボン酸エ斯特ル)として特定のものを選ぶと生成するジペプチドとアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物が析出することを見出して本発明を完成した。

即ち本発明は、一般式



で表わされる化合物(式中 R_1 は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルfonyl 基、又は芳香族スルフィニル基であり、 R_2

$(2,6-(\text{CH}_3)_2-\phi-\text{CH}_2-\text{O}-\text{O}-)$ 等のその核置換誘導体基、ベンゾイル基($\phi-\text{O}-$)、 α -トルエンスルホニル基($\phi-\text{CH}_2-\phi-\text{SO}_2-$)等の芳香族スルホニル基; 又は α -ニトロスルフィニル基

$(\phi-\text{NO}_2-\phi-\text{SO}_2-)$ 等の芳香族スルフィニル基である。

R_3 について云えれば、これがメチル基のときはアラニンの、イソブロピル基のときはバリンの、イソブチル基のときはロイシンの、イソアミル基のときはイソロイシンの、ベンジル基のときはフェニルアラニンの骨格をそれぞれ持つものである。

また R_4 はアルコール残基であつて、メトキシ基($\text{CH}_3\text{O}-$)、エトキシ基($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}-$)、プロポキシ基($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}-$)、ブトキシ基($\text{C}_4\text{H}_9\text{O}-$)などの低級アルコキシ基; ベンジルオキシ基; 又はベンズヒドリルオキシ基である。

本発明の化合物、例えばその典型的な例である α -ベンジルオキシカルボニル- α -アスパラチル・フェニルアラニンメチルエ斯特ルとフェニルアラニンメチルエ斯特ルとから生ずる化合物について云えれば、第1図(実施例1で得られた本発明の化

特開昭53-92729 (5)
はメチル基、イソブロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、 R_5 は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基であり、 n は 1 又は 2 である) で表わされる新規かつ有用な化合物を提供するものである。

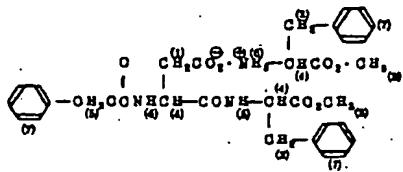
本発明はまた上記一般式で表わされる化合物(以下本発明の化合物という)の製造法を提供するものである。

本発明の化合物は α が 1 のときアスパラギン酸の、 α が 2 のときグルタミン酸の骨格を含むものである。

本発明の化合物の式中、 R_1 は第3級ブチルオキシカルボニル基($(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{O}-\text{CO}-$)、第3級アミルオキシカルボニル基($(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{C}_2\text{H}_5)-\text{O}-\text{CO}-$)の様な脂肪族オキシカルボニル基; ベンジルオキシカルボニル基($\phi-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$)若くは p -メトキシベンジルオキシカルボニル基($p-\text{CH}_3\text{O}-\phi-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$)、3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル基($3,5-(\text{CH}_3\text{O})_2-\phi-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$)、2,4,6-トリメトキシベンジルオキシカルボニル基

合物の赤外吸収スペクトル図)に示す様に、赤外吸収スペクトルにおいて、 $3,260\text{ cm}^{-1}$ [CN-H 伸縮], $3,000\sim 3,200\text{ cm}^{-1}$ [C-H 伸縮], $1,740\text{ cm}^{-1}$ [エステルの O-O], $1,720\text{ cm}^{-1}$ [ウレタンの C-O], $1,660\text{ cm}^{-1}$ [アミド第I吸収], $1,630\text{ cm}^{-1}$ [カルボキシレート], $1,540\text{ cm}^{-1}$ [アミド第II吸収], $1,430$ 及び $1,450\text{ cm}^{-1}$ [C-H 变角], $1,390\text{ cm}^{-1}$ [カルボキシレート], $1,220\sim 1,290\text{ cm}^{-1}$ [C-O-C 伸縮及びアミド第II吸収], $1,050\text{ cm}^{-1}$ [フェニル面内变角], 740 及び 695 cm^{-1} [モノ置换ベンゼン環面外变角], それぞれ由来する吸収がみられる。

また同じ化合物の核磁気共鳴スペクトルを第2図に示すがその特徴は $\delta: 2.75\text{ ppm}$, 3.02 ppm , 3.61 ppm , 3.7 ppm , $4.4\sim 4.8\text{ ppm}$, 5.05 ppm , 5.82 ppm , 及び 7.3 ppm [C]あり、これらはそれぞれ下記の様に帰属させることができると云ふ。

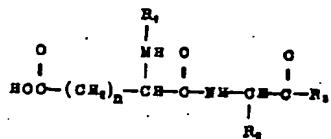


(I) δ = 27.5 ppm (2H)
 (II) δ = 3.02 ppm (4H)
 (III) δ = 3.61 ppm (3H)
 及び δ = 3.7 ppm (3H)
 (IV) δ = 4.4~4.8 ppm (3H)
 (V) δ = 5.05 ppm (2H)
 (VI) δ = 5.82 ppm (5H)
 (VII) δ = 7.3 ppm (15H)

本発明の化合物の元素分析値は上記一般式の場合の計算値と極めてよい一致を示す。また塩酸等の強酸で処理した後、酢酸エチル等の有機溶剤で抽出すると有機層から酸性を示す物質が得られる。R₁がベンジルオキシカルボニル基、R₂がベンジル基、R₃がメトキシ基の場合について云うと、その赤外吸収スペクトルは第3図に示す様に

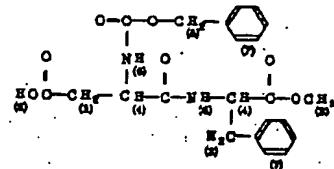
の値、即ちδ: (I) 27.5 ppm (2H), (II) 3.02 ppm (2H), (III) 3.61 (3H), (IV) 4.4~4.8 (2H), (V) 5.01 (2H), (VI) 6.5 (2H), (VII) 2 (10H) 及び δ = 1 (1H) もこの構造を支持する(数値の前の括弧内の数字は上記式中の括弧の中の数字に対応)。

一般的に云えどこの酸性物質はL-L型の一般式



で表わされる化合物である。本発明の化合物を塩酸等の強酸により処理し、有機溶剤で抽出すると上述した様に上記の一般式で表わされる化合物が得られるが、そのとき水相からは使用原料によりL-L型又はD型に富むアミノカルボン酸が回収される。その場合上記化合物とアミノカルボン酸が定量関係となることから、本発明の化合物が前記した一般式で表わされるジペプチドエス

特開昭53-92729 (6)
 3,350 cm⁻¹ (N-H伸縮), 2950~3100 cm⁻¹ (O-H伸縮), 1220~1740 cm⁻¹ (C=Oエステル及びカルボン酸), 1700 cm⁻¹ (ウレタン), 1660 cm⁻¹ (アミド第1吸収), 1540 cm⁻¹ (アミド第2吸収), 1430 及び 1450 cm⁻¹ (O-H変角), 1220, 1240 及び 1270 cm⁻¹ (O-O-C(エカル及びアミド第2吸収), 1020 及び 1040 cm⁻¹ (フェニル面内変角並びに690 及び 730 cm⁻¹ (モノ置換ベンゼン環面外変角) の吸収に特徴があり、このものを接触還元すると公知のL-Lアスパラギル-フェニルアラニンメチルエスチルと同一の物質が得られること及び元素分析値が一致する等の事実から、この酸性物質は



の構造を持つ化合物と決定した。核磁気共鳴吸収

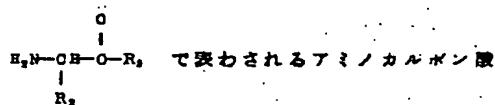
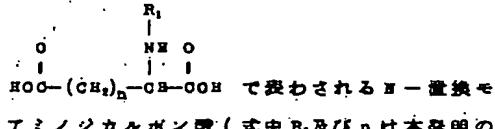
ルとアミノカルボン酸エスチルとの1:1の付加化合物であることが明らかとなつた。

本発明の化合物はペプチド合成における中間体として極めて有用な物質である。前述した様に本発明の化合物を塩酸等の強酸で処理し有機溶剤で抽出すれば保護されたアミノ基を持つジペプチドが得られる。このものからそのアミノ基の保護基であるR₁を慣用の方法、例えば水素還元等によつて除去すれば容易にアミノ基とカルボキシル基を各1個有するジペプチドエスチルとすることができる。こうして得られるジペプチドエスチルは極めて有用な物質である。例えばR₁が1、R₂がベンジル基でR₃がメトキシ基の場合であるアスパラギル-フェニルアラニンメチルエスチルは甘味剤として用いることのできる物質である。

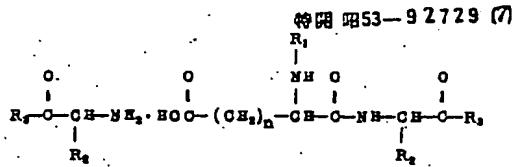
一方本発明の方法は本発明の化合物を製造する方法に関するものであつて、ヨー置換モノアミノジカルボン酸及びアミノカルボン酸エスチルを蛋白分解酵素によつてペプチド結合させ、更に生成するジペプチドエスチルとアミノカルボン酸エスチ

ルとの付加化合物を形成させ、これを回収するものである。

即ち、一般式



エステル（式中 R₂ 及び R₃ は本発明の化合物のそれと同一の意味を表す）とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、更に生成したペプチドエステルとアミノカルボン酸との付加化合物を形成させ、これを分離することを特徴とする。一般式



で表わされるヨー置換モノアミノジカルボン酸エステルとアミノカルボン酸との付加化合物（式中 R₁、R₂、R₃ 及び n は前記同様の意味である）の製造法である。

出発物質のヨー置換モノアミノジカルボン酸は n が 1 のときアスパラギン酸の、n が 2 のときグルタミン酸のヨー置換酵素体である。

R₁ はアミノ基の保護基であつて、本発明の方法においてアミノ基を保護するものである。従つて本発明の方法の反応の間安定であることが必要であるが、後にアミノ基から離脱させる必要がある場合には、生成物の骨格に影響を与えることなしに離脱できるものであることも必要である。また本発明の化合物は水性媒体から析出させて分離するので、その析出を妨害する様な基、例えばスルホン基の様な水溶性を大きく増大させる基を持つものであつてはならない。本発明の方法で用いる

ヨー置換モノアミノジカルボン酸は相当するモノアミノジカルボン酸に慣用の方法でアミノ基の保護基 R₁ を導入することにより容易に得ることができる。

一方の出発物質であるアミノカルボン酸エステルとしては個々に疎水性の基を持つアミノ酸のエステルを用いるものであり、R₁ がメチル基のときはアラニンの、イソプロピル基のときはバリンの、イソブチル基のときはロイシンの、イソアミル基のときはイソロイシンの、ベンジル基のときはフェニルアラニンのエステルである。

本発明の方法で用いる蛋白分解酵素としては活性中心に金属イオンを有する酵素即ち金属プロテアーゼが最も好ましい。その例としては微生物起源のもの、例えば、放線菌起源の中性プロテアーゼ、プロリシン、サーモライシン、コラグナーゼ、クロタルス・アストロングス・プロテアーゼ等をあげることができる。粗製の酵素例えばサモアーゼなども使用できる。その原夾雜するエスター等の作用を避けるため、ボテトイインヒビターなど

の阻害剤を併用してもよい。

ババインなどのオールプロテアーゼ、又はトリプシンなどのセリンプロテアーゼも使用不能ではないがエステラーゼ作用を伴うので、エステルの加水分解が起きない様注意して反応を行なう必要がある。

本発明のペプチド生成反応は水性媒体中、好ましくは水溶液中、使用する蛋白分解酵素が酵素活性を示す pH 条件のもとで反応させるものである。本発明のペプチドとアミノカルボン酸エステルとの付加化合物形成反応も pH 依存性があり、結局本発明の方法は pH 約 4 乃至約 7、最も好ましくは pH 約 5.5 乃至約 8 で行なうのが望ましい。従つて出発原料であるヨー置換モノアミノジカルボン酸及びアミノカルボン酸エステルは過酸型でも塩でもよいが、この両成分を水性媒体中に溶解したとき、この pH 条件に調整する必要がある。pH 調節剤としては塩酸、硫酸、酢酸の様を慣用の無機酸又は有機酸及び水酸化ナトリウム、水酸化カリウムの様な水酸化アルカリ、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等を用いる。

リウムの様なアルカリ炭酸塩、アンモニア、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エタノールアミンの様な有機又は無機のアミン等の慣用の無機又は有機の塩基を用いることができる。

本発明の方法では放出される水素イオシの量と水酸イオンの量は当量関係にあるので、反応によるpH変動はあまりない。しかし勿論その変動を抑えるため、適当な緩衝剤を使用してもよい。工業的にはpH検出機構と連動するpH調節機構を設けて制御するのが便利である。

水性媒体としては通常水溶液を使用する。その際水に可溶の有機溶剤を併用してもよい。

本発明の方法は温度10°C乃至90°C、酵素活性を維持する範囲から好ましくは20°C乃至50°Cで行なうものである。反応は通常約30分乃至24時間程度で完結するが、この反応時間はなんら限制的でない。

本発明の方法の両出発物質の使用濃度には格別の規定はないが、本発明の方法が本質的に生成物を析出させることに依存するものであるので、こ

れの濃度が減少し、その溶け込みが起るからである。ただしこの場合、pHの変動が起る恐れが大きいので反応の進行に応じてpH調節の必要があることが多い。

本発明の方法で使用する酵素の量もまた限制的でない。使用濃度が高ければ反応が短時間で完了するが、濃度が低いとそれだけ反応時間が長くなるだけである。しかし一般的には両出発物質（基質）1ミリモルに対して2乃至400mg(5×10^{-4} 乃至 1×10^{-2} ミリモル)程度、好ましくは5乃至100mg(1×10^{-3} 乃至 3×10^{-2} ミリモル)程度である。

本発明の方法のペプチド生成反応はD体についてのみ起り、L体はこの反応に関与しない。一方付加化合物形成のためのアミノカルボン酸エステルはL型であるとD型であると問わない。従つて原料のアミノカルボン酸エステルとしてDL型選を使用するとペプチド結合生成によつて溶液中のL型アミノカルボン酸エステルが消費され、ジペプチドエステルとの付加化合物形成

の速度は比較的高い方が望ましい。しかし生成物の付加化合物は水に対する溶解度が小さいので(メーベンジルオキシカルボニル-L-アスパルテル-L-フェニルアラニンメチルエスチルとの付加化合物の場合、20°Cでの溶解度0.3g/100g水程度)、可成小さい濃度でも実施が可能である。具体的には約0.001M乃至7M程度好ましくは0.1M乃至4Mである。

この両成分の使用比率も限定的でない。しかし、本発明の方法が結局はD型アミノカルボン酸1分子とアミノカルボン酸エスチル2分子とを結合させることにあるので、この両原料は化学量論上1:2のモル比で、実際上は1.00:1乃至1:1.00、好ましくは3:1乃至1:5、最も好ましくは2:1乃至1:3のモル比で用いるものである。

本発明の両原料は必ずしもその全量が、水性媒体中に溶解していることを要せず、一部懸濁状態のものがあつてもよい。反応の進行によつて両原

料の濃度が減少し、その溶け込みが起るからである。ただしこの場合、pHの変動が起る恐れが大きいので反応の進行に応じてpH調節の必要があることが多い。

には、よりL型に富むアミノカルボン酸エスチルが関与することとなる。本発明の方法の反応は基質濃度が高いとほとんど定量的に進行するので、L型のD型アミノカルボン酸1モル量に対して2モル量のD-L型アミノカルボン酸エスチルを使用したときは、ほとんどL型のジペプチドエスチルとL型のアミノカルボン酸エスチルとの付加物からなる本発明の化合物が得られる。この付加化合物はすでに述べた様に容易に両成分に分離できるので、ジペプチドエスチルの製造と、アミノカルボン酸エスチルの光学分割を同時に行なうことができる。分離したL型又はD型に富むアミノカルボン酸エスチルは慣用の手段でラセミ化させ、本発明の原料として循環使用することができる。

またDL型のD型アミノカルボン酸とL型のアミノカルボン酸エスチルを用いればD型のD-L型アミノカルボン酸は反応しないので水性媒体中に残り、L型ジペプチドエスチルとL型のアミノカルボン酸エスチ

ルとの付加化合物が得られる。従つて水性媒体中よりD-型のヨー置換モノアミノジカルボン酸を回収すれば、ジペプチドエステルの製造とヨー置換-DL-モノアミノジカルボン酸の光学分割を同時に行なうことができる。こうして回収したヨー置換-DL-モノアミノジカルボン酸も慣用の手段でラセミ化すれば本発明の方法の出発原料として再使用することができる。

更にまたDL-型のヨー置換モノアミノジカルボン酸とDL-型のアミノカルボン酸エステルを使用すれば、同様にして水性媒体中からヨー置換-モノアミノジカルボン酸を、析出するL-型ジペプチドエステルとD-型アミノカルボン酸エステルとの付加化合物からペプチドエステルとD-アミノカルボン酸を得ることができるので、ジペプチドエステルの製造と、ヨー置換-DL-モノアミノジカルボン酸の光学分割及びDL-アミノカルボン酸エステルの光学分割を同時に行なうことができる。

本発明の方法によればジペプチドエステルの製

実施例 1

L-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 1.335 g. (5ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.078 g. (5ミリモル) を内容積約 30 ml のフレスコにとり、水 20 ml を加えて溶解し、アンモニア水 (7重量%) で pH 6 に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mg を加えて 3.8 乃至 4.0 ℃ で 1 夜間振とうした。

析出した沈殿を汎集し、水 40 ml で水洗後乾燥し、融点 111.7 乃至 120 ℃ を示す微細な針状晶

1.14.5 g を得た (L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩を基準とする、L-ベンジルオキシカルボニル-Lアスパラギル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルの 1 : 1 付加化合物としての收率 75.5 %)。

このものを酢酸エチル-ローヘヤサンの混合溶媒から再結晶して得た物質の物性及び元素分析結果は：

融点 112.0 ~ 124 ℃

$(\alpha)_D^{25} +2.1$ (C = 1, メタノール)

特開昭53-92729 (5)
造に当り、公知技術では当然必要と考えられる側鎖カルボキシル基への保護基の導入及び除去の工程を省略できる。従つてその工程に伴う原料、製品等の損失を避けることができる。また適当な条件を選べば收率が極めて高い。

本発明の方法では使用原料としてDL-型が使用できる。しかも通常の酵素を用いる方法ではDL-型は反応に関与しないとしても、無用のものであり、原料の損失につながるが、本発明の方法ではジペプチドの析出剤として有効に利用でき、しかも回収可能である。

本発明の方法では更にまたヨー置換-DL-アミノジカルボン酸及びDL-アミノカルボン酸エステルの光学分割を同時に行なうことができる。

以下本発明を実施例について更に詳細に説明する。

元素分析	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₅ として の計算値 (%)	実測値 (%)
C :	63.24	63.15
H :	6.13	6.15
N :	6.97	7.00

また赤外吸収スペクトル図を第1図に、核磁気共鳴吸収スペクトル図を第2図に示す。

こうして得た物質 1.145 g を塩酸(1N) 4.0 ml に溶解し、酢酸エチル 3.0 ml で3回抽出し抽出液を混合、水 2.0 ml で3回洗浄した。得られた酢酸エチル溶液に無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥した。この溶液を濃縮し、ローハキサンを加えて再結晶して結晶性物質 6.40 g を得た。このものの物性及び元素分析結果は：

融点 $111.5 \sim 125^\circ\text{C}$ ；

(α)_D²⁵ = -15.3 ($c = 1$, メタノール)

	計算値 (%)	実測値 (%)
C	61.67	61.52
H	5.65	5.65
N	6.54	6.57

またこの物質の赤外吸収スペクトル図を第3図に、核磁気共鳴スペクトル図を第4図に示す。これらの結果はL-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルのアミノ基をベンジルオキシカルボニル化して得られる物質と一致した。

アル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの $1:1$ 付加化合物 1.504 g を得た(L-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩基準で収率 9.21%) (融点 104 乃至 113°C)。

実施例3

B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸及びL-フェニルアラニンメチルエステルの使用量をそれぞれ 5.34 g ($2\text{ ml}\text{リモル}$)及び 8.63 g ($4\text{ ml}\text{リモル}$)に変えた他は実施例2に準じて反応を行ない、B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの $1:1$ 付加化合物 1.068 g を得た(融点 116 乃至 119°C , B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 7.04%)。

実施例4

B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン

特開昭53-92729(10)
また上述した酢酸エチル溶液での抽出の際の塩酸層と洗浄水の混合液からはL-フェニルアラニンメチルエステルを回収した。

従つて上記最初の反応で得られた物質はB-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの付加化合物であり、両者の比は核磁気共鳴スペクトルから $1:1$ であることがわかつた。

実施例2

B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 1.335 g ($5\text{ ml}\text{リモル}$)及びL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.078 g ($5\text{ ml}\text{リモル}$)を内容積約 3.0 ml のフラスコにとり、水 1.0 ml を加えて溶解し、アンモニア水(7 重量\%)でpH 6.4に調整した。この溶液にサモライシン 5.0 mg を加えて、 $3.0\text{ 乃至 }4.0^\circ\text{C}$ で1夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、充分に水を切つてから乾燥し、B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラ

酸 5.34 g ($2\text{ ml}\text{リモル}$)及びL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩 6.63 g ($4\text{ ml}\text{リモル}$)を内容積約 3.0 ml のフラスコにとり水 8 ml を加えて溶解し、アンモニア水(7 重量\%)でpH 6.2に調整した。この溶液にサモライシン 5.0 mg を加えて $3.0\text{ 乃至 }4.0^\circ\text{C}$ で1夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、充分に水を切つてから乾燥し、B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチルエステルとの $1:1$ 付加化合物 1.099 g を得た。(B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 9.05%)。

実施例5

B-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 2.672 g ($1\text{ ml}\text{リモル}$)及びL-フェニルアラニンメチルエステル 5.376 g ($5\text{ ml}\text{リモル}$)にpH 7.0のマツルベイン緩衝液 5 ml を加えて溶解し、これにサモアーゼ 1.00 mg 及びボテトインヒビター 1.00 mg を添加して 3.0°C で20時間振とう

りした。折出した結晶を伊集し、水洗後乾燥して D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物を粗結晶として 58.0 mg (融点 123 乃至 125 ℃, D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 95.5 %) 得た。これをジメチルホルムアミドと水との混合溶媒 (1:1) 4.0 mL に溶解し、D 型強酸性陽イオン交換樹脂を加えて充分に搅拌し、樹脂を除去した後沪液を減圧濃縮した。残渣をジメチルホルムアミドに溶解したのち水を加えて D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルの結晶を析出させた。得量 33.0 mg (D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 77.0 %)、融点 123 乃至 125 ℃。

実施例 6

D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 2.67.2 mg (1 ミリモル) 及び L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩 1.07.0 mg (5 ミリモル) を内容積 3.0 mL のフラスコにとり、水 4 mL を

加えて溶解し、トリエチルアミンで pH 6.8 に調整した。この溶液にマーキュライシン 2.0 mg を加えて 3.8 乃至 4.0 ℃ で 2 日間振とうした。折出した沈殿を伊集し、水 4.0 mL で洗浄後、乾燥し、D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物 4.75 mg を得た (L-フエニルアラニンメチルエステル塩酸塩基準で収率 51.3 %)。このものを酢酸エチル-クロロヘキサン混合溶媒から再結晶して得た結晶の物性及び元素分析値は下記の通りであつた：

融点 112.0 ~ 124 ℃

$(\alpha)_D^{25} +2.2$ ($C = 1$, メタノール)

元素分析	計算値 (%)	実測値 (%)
C:	65.24	65.52
H:	6.13	6.22
N:	6.97	7.04

実施例 8

pH を 5.2 とした他は実施例 7 と全く同様にしで反応を行ない D-ペニンジルオキシカルボニル-L-

特開昭53-92729 (11)
ニンメチルエステル 35.84 mg (2 ミリモル) に
pH 7.0 のマツキルペイン緩衝液 5 mL を加えて溶解
し、これにタシナーゼ E (Taqynase E) 1.0.0 mg 及
びポテトインヒビター 1.00 mg を添加して 38 ℃
で 6 時間振とうした。折出した結晶を伊集し、水
洗後乾燥して D-ペニンジルオキシカルボニル-L-ア
スパラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルと
との 1:1 付加化合物を粗結晶として 12.0 mg
(融点 119 乃至 123 ℃, 収率 12.7 %) 得た。
これを実施例 5 に準じて強酸性陽イオン交換樹脂
で処理し、D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アス
パラチル-L-フエニルアラニンメチルエステルの
結晶 5.0 mg (融点 95 乃至 105 ℃, 収率 1.17
%) を得た。

実施例 7

D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン
酸 1.33.5 mg (5 ミリモル) 及び L-フエニルアラ
ニンメチルエステル塩酸塩 1.07.0 mg (5 ミリモ
ル) を内容積 3.0 mL のフラスコにとり、水 4 mL を

-アスパラチル-L-フエニルアラニンメチルエス
テルと L-フエニルアラニンメチルとの 1:1 付
加化合物 7.53 mg を得た (L-フエニルアラニンメ
チルエステル塩酸塩基準で収率 49.5 %)。

実施例 9

D-ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン
酸 1.33.6 mg (0.5 ミリモル) 及び L-フエニルア
ラニンメチルエステル 0.26 mg (0.5 ミリモル) に
pH 7.0 のマツキルペイン緩衝液 2.5 mL 及びトリエ
チルアミン 0.07 mL を加えて溶解し (pH 6.7 となつ
た)、これにサモアーゼ 5.0 mg 及びポテトインヒ
ビター 6.0 mg を添加して 38 ℃ で 20 時間振とう
した。折出した結晶を伊集し、水洗後乾燥して D-
ペニンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-
フエニルアラニンメチルエステルと L-フエニルア
ラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物を
粗結晶として 13.0 mg (融点 115 乃至 124 ℃,
L-フエニルアラニンメチルエステル基準で収率
65.5 %) 得た。

特開 昭53-92729(12)
7.0mg (L-フェニルアラニン利用率5.0%基準で
収率6.6%)を得た。

これをジメチルホルムアミドと水との混合溶媒
(1:1) 2.0mlに溶解し、実施例5に準じて日
型強酸性陽イオン交換樹脂による処理を行ない、
N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニ
ンメチルエステルの結晶7.5mg (L-フェニルアラニ
ンメチルエステル利用率5.0%基準で収率7.0
%)を得た。

実施例1.0

トリエチルアミン0.07mlに代えてN-メチルセ
ルホリン0.05mlを用いて実施例9に準じて反応
を行ない(反応開始時pH6.4)、N-ベンジルオ
キシカルボニル-L-アスパラギル-L-フェニルア
ラニンメチルエステルとL-フェニルアラニンメチ
ルエステルとの1:1付加化合物粗結晶1.20mg
(融点111.8乃至124°C, L-フェニルアラニン
メチルエステル基準で収率7.8.9%)を得た。こ
れを実施例9に準じて日型強酸性陽イオン交換樹
脂による処理を行ない、N-ベンジルオキシカルボ
ニル-L-フェニルアラニンメチルエステルの結晶

でN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギル
-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニ
ルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物
7.34mgを得た(融点106乃至118°C, 収
率6.0.5%)。

実施例1.3

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン
酸5.40mg (2ミリモル)及びL-フェニルアラニ
ンメチルエステル塩酸塩8.63mg (4ミリモル)
を内容積約3.0mlのフラスコにとり、水2mlを加
えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6
に調整した。この溶液にサモアーゼ1.00mgを加え
て、3.8乃至4.0°Cで40時間振とうした。析出
した沈殿を汎集し、十分に水を切つてから乾燥し
て、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギ
ル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニ
ルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物
1.77mgを得た(融点103乃至112°C, 収
率2.2.1%)。

実施例1.1

反応時のpHを4.5、振とう時間を1時間にし
た他は実施例4に準じて反応を行ない、N-ベンジ
ルオキシカルボニル-L-アスパラギル-L-フェニ
ルアラニンメチルエステルとL-フェニルアラニ
ンメチルエステルとの1:1付加化合物9.20mgを
得た(収率7.5.8%)。

実施例1.2

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン
酸5.34mg (2ミリモル)及びL-フェニルアラニ
ンメチルエステル塩酸塩8.63mg (4ミリモル)
を内容積約3.0mlのフラスコに取り、水2mlを加
えて溶解し、水酸化ナトリウム水溶液(1N)
5.5mlを加えてpHを7に調節した。この溶液にサ
モライシン5.0mgを加えて3.8乃至4.0°Cで2
時間振とうした。析出した沈殿を汎集し、乾燥し

実施例1.4

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン
酸2.70mg (1ミリモル)及びL-フェニルアラニ
ンメチルエステル塩酸塩4.32mg (2ミリモル)
を内容量約3.0mlのフラスコ中にとり、水4mlを
加えて溶解し、アンモニア水(7重量%)でpH6
に調整した。この溶液にサモアーゼ5.0mgを加え
て、3.8乃至4.0°Cで40時間振とうした。析出
した沈殿を汎集し、十分に水を切つてから乾燥し
て、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギ
ル-L-フェニルアラニンメチルエステルとL-フェニ
ルアラニンメチルエステルとの1:1付加化合物
1.77mgを得た(融点103乃至112°C, 収
率2.2.1%)。

実施例1.5

反応溶液に更にボテトイシヒビター5.0mgを加
えた他は実施例1.4と全く同様にして反応を行な
い、同一の生成物3.31mg (融点105乃至117
°C, 収率6.2.7%)。

実施例 1-6

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸 5.34 g (2ミリモル) 及び DL-L-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩 8.63 g (4ミリモル) を内容量約 5.0 ml のフラスコにとり、水 2 ml で溶解し、アンモニア水 (7重量%) で pH 6.2 に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mg を加えて、38 乃至 40°C で 1 夜間振とうした。析出した沈殿を汎集し、充分に水を切つてから乾燥し、104.5 mg の結晶を得た (融点 104°C 乃至 108°C)。N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸を基準とする、N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルとフェニルアラニンメチルエステルの 1:1 付加化合物としての収率 86.1%。これを酢酸エチル-ローハキサン混合溶媒から再結晶して下記物性及び元素分析値を示す物質を得た：

融点 127 ~ 135°C

$(\alpha)_D^{25} = -6.4$ (C=1, メタノール)

元素分析		特開昭53-92729 (13) C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂ とし ての計算値 (%)	
C :	63.24	63.52	
H :	6.13	6.19	
N :	6.97	6.92	

またこの物質の赤外吸収スペクトル及び核磁気共鳴吸収スペクトルは第1図及び第2図と全く同じ特徴を示すのでこのものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルと L-フェニルアラニンメチルエステルとの 1:1 付加化合物であると推定された。この物質 8.00 g を 4.0 ml の塩酸 (1N) に溶解し、メテレンジクロリド 3.0 ml で 3 回抽出し、メテレンジクロリド層を水洗し、無水硫酸マグネシウムで脱水し、更にメテレンジクロリドを蒸発により除去したのち固体分を酢酸エチル-ローハキサン混合溶媒から再結晶した。得られた結晶は 4.50 g で、その物性及び元素分析の結果は、

融点：124 ~ 132°C

$(\alpha)_D^{25} = -15.3$ (C=1, メタノール)

元素分析		C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂ とし ての計算値 (%)	
C :	61.67	61.38	
H :	5.65	5.58	
N :	6.54	6.29	

であり、このものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエステルであつた。

また上記メテレンジクロリドで抽出した抽出液の水層に炭酸水素ナトリウムを加えて pH 7 とし、メテレンジクロリド 3.0 ml で 3 回抽出した。抽出液を無水硫酸マグネシウムで乾燥し塩化水素ガスを約 1.0 分間吹込んでからメテレンジクロリドを濃縮し、エチルエーテルを加えて再結晶した。L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾塩酸塩 2.90 g を得た (このものの融点 149 乃至 151°C, $(\alpha)_D^{25} = +2.8$ (C=1, メタノール))；赤外吸収スペクトル及び核磁気共鳴吸収スペクトルは L-体と一致)。従つて上記の推定は正しく、本実施例の反応で得られたものは N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾。

と L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾との 1:1 付加化合物であつた。

実施例 1-7

N-ベンジルオキシカルボニル-DL-L-アスパラギン酸 10.69 g (4ミリモル) 及び L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾塩酸塩 8.63 g (4ミリモル) を内容量約 5.0 ml のフラスコにとり、水 2 ml を加えて溶解し、アンモニア水 (7重量%) で pH 6 に調整した。この溶液にサーモライシン 5.0 mg を加えて 38 乃至 40°C で 2 時間振とうした。析出沈殿を汎集し、水 2.0 ml で洗浄後乾燥して N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラチル-L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾と L-フェニルアラニンメチルエ斯特爾との 1:1 付加化合物 7.8, 7.7 g を得た (融点 105 乃至 110°C, N-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 64.8%)。

この物を酢酸エチル-ローハキサン混合溶媒から再結晶したものは融点 121 乃至 125°C。

$(\alpha)_{D}^{25} : 7.2$ ($c = 1$, メタノール) を示した。

一方反応残液からは D-型に富むヨーベンジルオキシカルボニル-アスパラギン酸を回収することができた。

実施例 1-8

L-フエニルアラニンメチルエステルに代えて DL-フエニルアラニンメチルエステルを用いて実施例 1-7 と同様に処理し反応させ、ヨーベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 62.3%を得た (融点 105 乃至 111°C, ヨーベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸基準で収率 62.3%)。

この物を酢酸エチル-ローヘキサシ混合溶媒から再結晶したものは融点: 126 乃至 134°C。

$(\alpha)_{D}^{25} : -4.5$ ($c = 1$, メタノール) を示した。

一方反応残液からは D-型に富むヨーベンジルオキシカルボニル-アスパラギン酸を回収することができた。

4 図面の簡単な説明

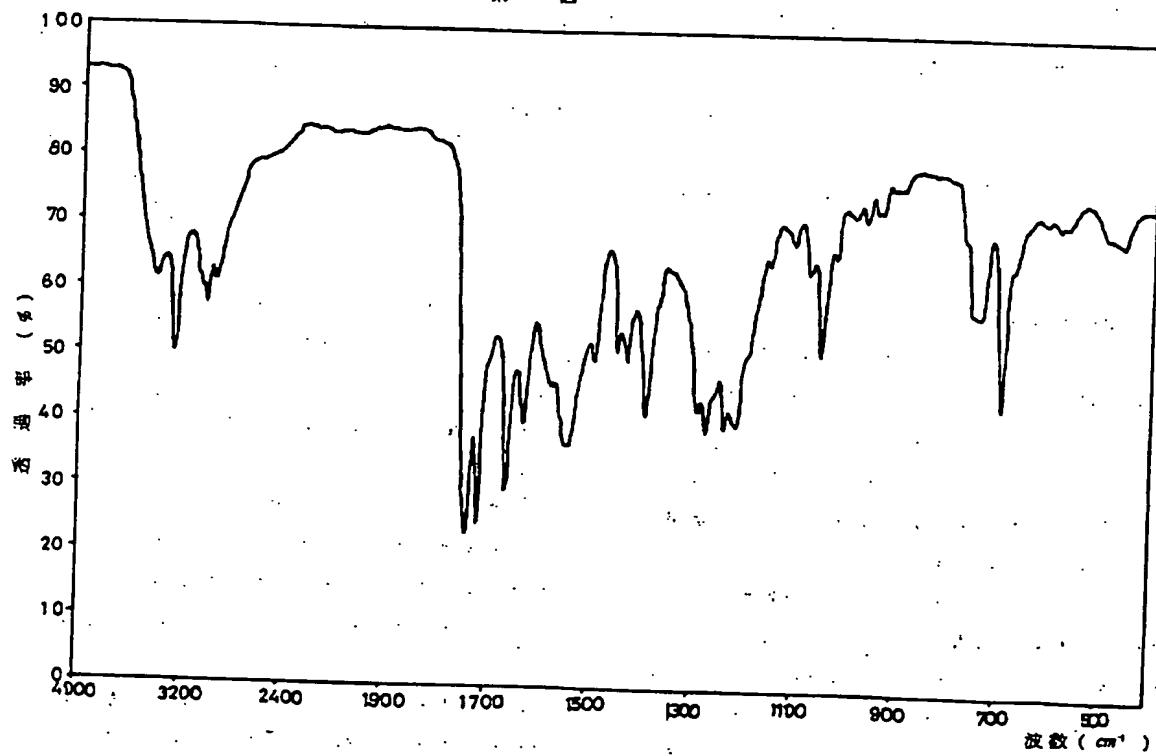
特開昭53-92729(14)

第 1 図は実施例 1 で得た本発明の化合物の赤外吸収スペクトルを示す図、第 2 図は同じ化合物の核磁気共鳴吸収スペクトルを示す図、第 3 図はこの化合物からアミノカルボン酸エステル単位を除去した化合物の赤外吸収スペクトルを示す図、第 4 図は同化合物の核磁気共鳴吸収スペクトルを示す図である。

特許出願人 財団法人 相模中央化学研究所

同 (代表出願人) 東洋事務工業株式会社

第 1 図

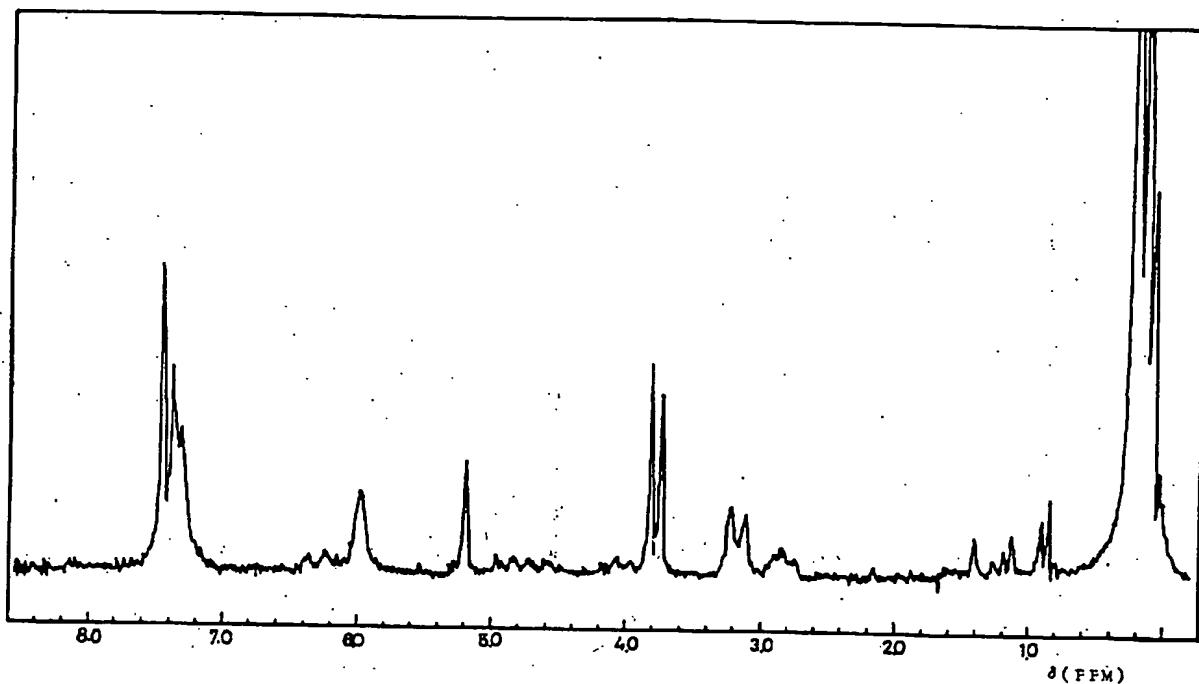


特許出願人 相模中央化学研究所

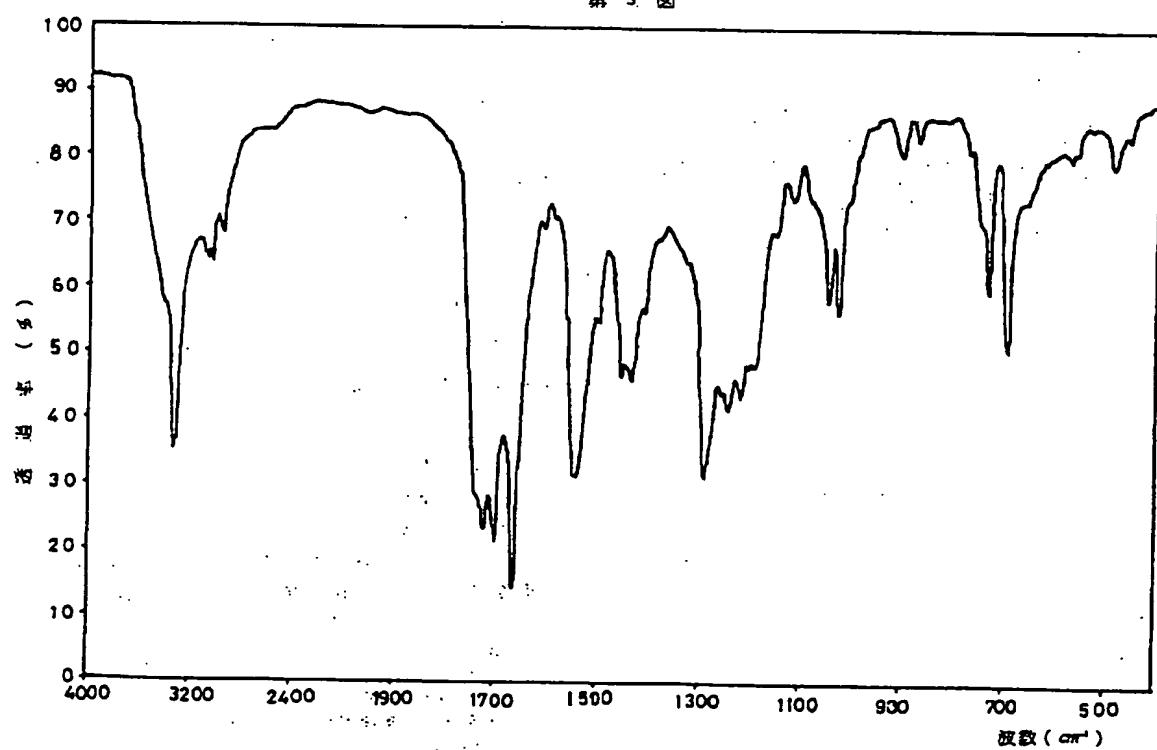
第 2 図

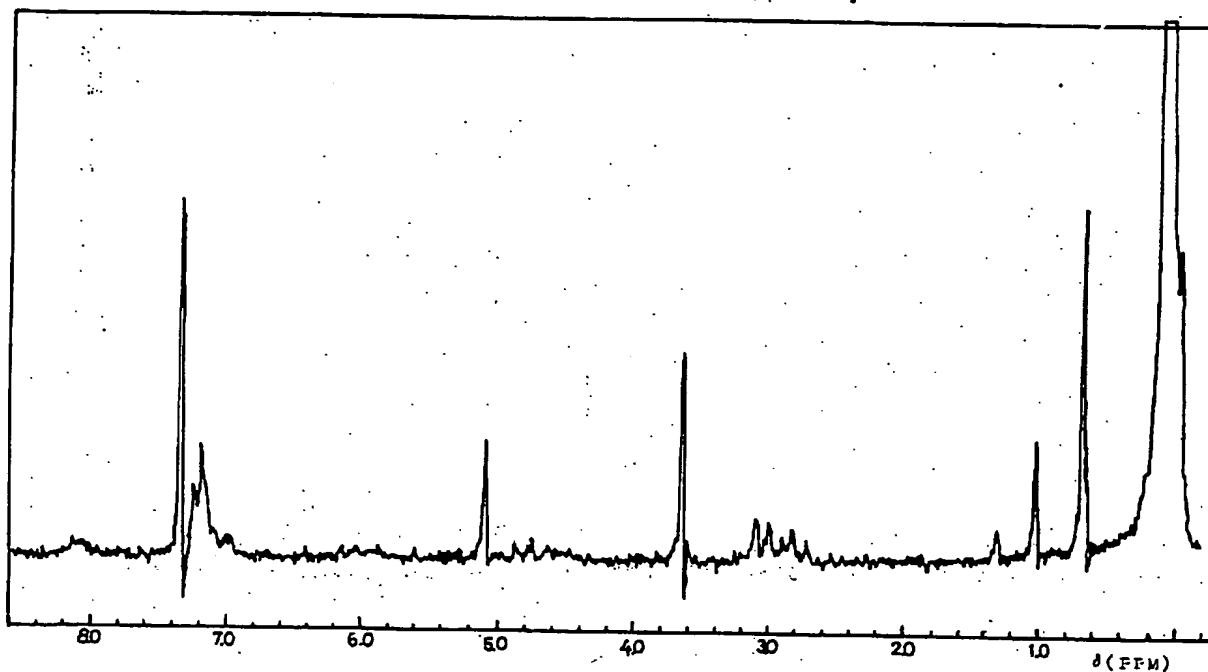
溶媒: CDCl₃

特開 昭53- 92729 (15)



第 3 図





手 続 極 正 書

第1頁の続き

昭和52年3月24日

②発明者 西村磁哲

特許庁長官 片山石郎殿

新南陽市大字富田4560番地

③出願人 財団法人相模中央化学研究所
東京都千代田区丸の内1丁目4
番5号

1.事件の表示

昭和52年特許願第 7279号

2.発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3.補正をする者

事件との関係 特許出願人(代表特許出願人)

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字富田4560番地

名称 (330) 東洋電工株式会社

代表者 青木周吉

(連絡先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋電工株式会社 特許情報部

電話番号 東京(585)3511

4.補正命令の日付 自発補正

特開昭53-92729(17)

手 拠 補 正 書

昭和52年10月18日

5.補正により増加する発明の数 なし

特許庁長官 鳩谷巻二段

6.補正の対象 :

明細書全文（内容に変更なく、タイプ印書による明細書に補正するもの）

7.補正の内容

別紙の通り

8.添付書類の目録

(1)タイプ印書による明細書全文 1通

1.事件の表示

昭和52年特許願第7279号

2.発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3.補正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 744

山口県新南陽市大字富田4540番地

名称 (588) 東洋電通工業株式会社

代表者 青木周吉

(通達先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋電通工業株式会社 特許情報部

電話番号 東京(585)3511



4.補正命令の日付 自発補正

6.補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄

7.補正の内容

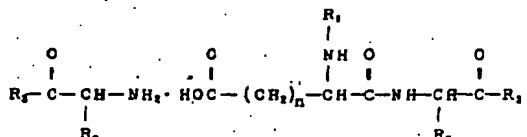
別紙のとおり

8.添付書類の目録

補正後の特許請求範囲の全文を記載した書面

2.特許請求の範囲

(1) 一般式



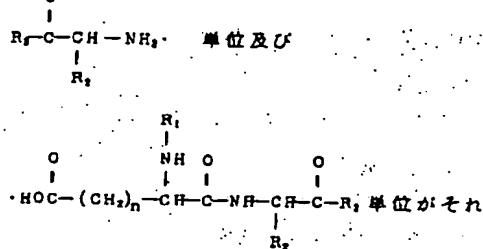
で表わされる化合物(式中 R₁は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基、又は芳香族スルフィル基であり、R₂はメチル基、イソプロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₃は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンズヒドリルオキシ基であり、nは1又は2である上)

(2) R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第1項記載

特開 昭53-92729(18)

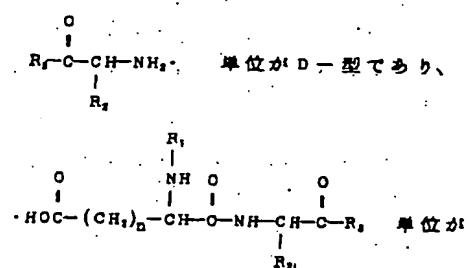
L-L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物

(3) 式中

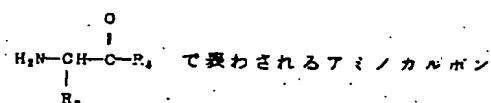


それL-L-型及びL-L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

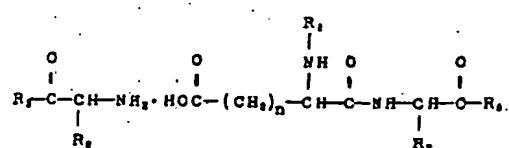
(4) 式中



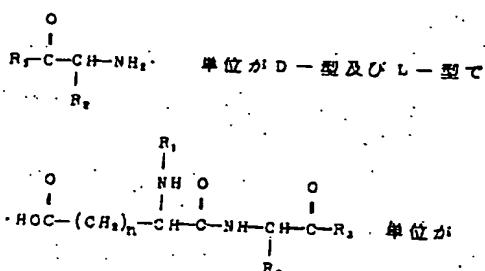
ル基、芳香族スルフオニル基又は芳香族スルフィニル基であり、nは1又は2である)と、一般式



酸エステル(式中R₁はメチル基、イソブロピル基、イソブチル基、イソアミル基又はベンジル基であり、R₂は低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基又はベンゼヒドリルオキシ基である)とを水性媒体中蛋白分解酵素の存在下で反応させ、更に生成したジペプチドエステルとアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させ、これを分離することを特徴とする、一般式

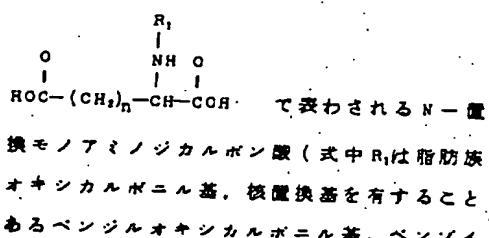


(5) 式中



L-L-型である特許請求の範囲第1項又は第2項記載の化合物。

(6) 一般式



で表わされるジペプチドエステルとアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物(式中R₁、R₂、R₃及びnは前記同様の意味である)の製造法。

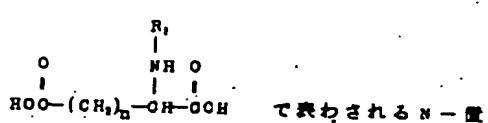
(7) R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第6項記載の製造法。

(8) 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第6項又は第7項記載の製造法。

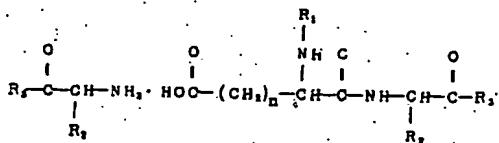
(9) 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第6項乃至第8項のいずれかの項記載の製造法。

(10) 反応をpH5乃至8で行う特許請求の範囲第6項乃至第9項記載の製造法。

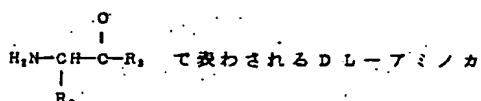
(11) 一般式



特開 昭53-92729(19)



換一レーソノアミノジカルボン酸(式中 R₁は脂肪族オキシカルボニル基、核置換基を有することあるベンジルオキシカルボニル基、ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、nは1又は2である)と、一般式



03 R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第11項記載の製造法。

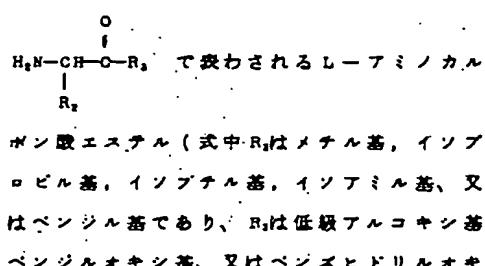
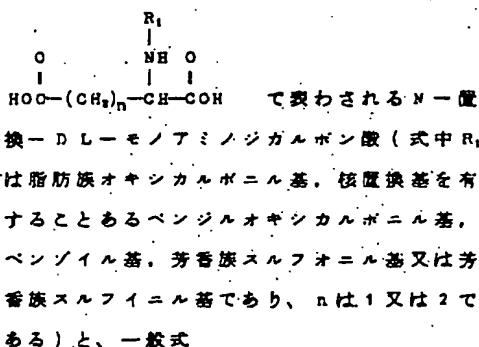
04 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第11項又は第12項記載の製造法。

05 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第11項乃至第13項のいずれかの項記載の製造法。

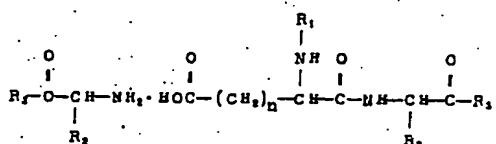
06 反応をpH5乃至8で行なう特許請求の範囲第11項乃至第14項のいずれかの項記載の

製造法。

06 一般式



存在下で反応させ、生成したL-L-型ジペプチドエ斯特ルとL-L-型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物を形成させて反応系より分離し、水性媒体中よりD-L-モノアミノジカルボン酸を回収することを特徴とする、一般式



で表わされるL-L-型ジペプチドエ斯特ルとL-L-型アミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物(式中 R₁、R₂、R₃及びnは前記同様の意味である)の製造法。

07 R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基であり、nが1である特許請求の範囲第16項記載の製造法。

08 N-置換-D,L-モノアミノジカルボン酸

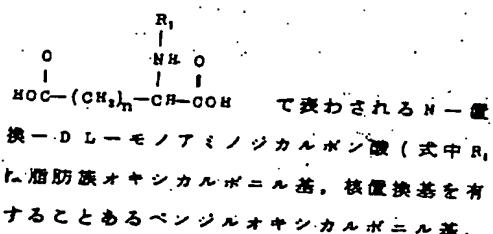
とレーアミノカルボン酸エステルとをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第16項又は第17項記載の製造法。

⑨ 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第16項乃至第18項のいずれかの項記載の製造法。

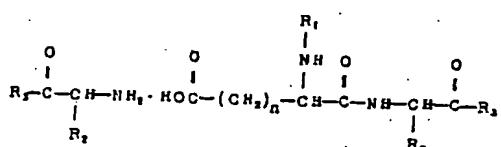
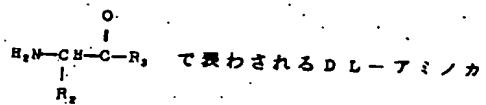
⑩ 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第16項乃至第19項のいずれかの項記載の製造法。

⑪ 反応をpH 5乃至8で行なう特許請求の範囲第16項乃至第20項のいずれかの項記載の製造法。

② 一般式



特開昭53-92729(20)
ベンゾイル基、芳香族スルフォニル基又は芳香族スルフィニル基であり、nは1又は2である）と、一般式



で表わされるL型ジペプチドエ斯特ルとD型又はD型に富むアミノカルボン酸エ斯特ルとの付加化合物（式中R₁, R₂, R₃及びnは前記同様の意味である）の製造法。

④ R₁がベンジルオキシカルボニル基であり、R₂がベンジル基であり、R₃がメトキシ基でありnが1である特許請求の範囲第22項記載の製造法。

⑤ N-置換-D,L-モノアミノジカルボン酸とD,L-アミノカルボン酸エ斯特ルとをモル比でほぼ同量用いる特許請求の範囲第22項又は第23項記載の方法。

⑥ 水性媒体が水溶液である特許請求の範囲第22項乃至第24項のいずれかの項記載の製造法。

⑦ 蛋白分解酵素が金属プロテアーゼである特許請求の範囲第22項乃至第25項記載の製造法。

⑧ 反応をpH 5乃至8で行なう特許請求の範囲第22項乃至第26項のいずれかの項記載の製造法。

手続補正書

昭和52年10月18日

特許庁長官 須谷 勝二 殿

1. 事件の表示

昭和52年特許願第7279号

2. 発明の名称

ジペプチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字富田456番地

名称 (338) 東洋電機工業株式会社

代表者 齋木 周吉

(追記)

郵便番号 107

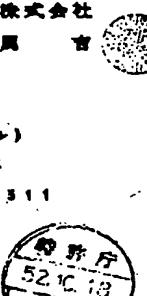
東京都港区虎ノ門1丁目7番7号(東京ビル)

東洋電機工業株式会社 代表特許係

電話番号 東京(03)3311

4. 補正命令の日付 自発補正

5. 補正により増加する説明の数



特開 昭53-92729(21)

6. 補正の対象

明細書の説明の詳細を説明の欄

7. 補正の内容

以下の通り。なお明細書の頁数及び行数は出版当初の明細書のそれを記載したが、この明細書は手書きによるものであり、昭和52年3月24日にそのタイプ序書を提出しているので、括弧内にタイプ序書の頁数及び行数を付記した。

① 明細書 17頁、1行

(タイプ序書 14頁、10行)の
「……BPM'」を「……BPX'」と訂正。

② 明細書 22頁、4行

(タイプ序書 18頁、5~6行)の
「……第1吸収に」を「……第1吸収に、」
と訂正。

③ 明細書 24ページ、15行

(タイプ序書 20頁、8~9行)

「面内変角並びに……」を「面内変角並びに……」
と訂正。

得丸。」と訂正。

以上

④ 明細書 26頁、8行

(タイプ序書 21頁、14行)

「……L-型、D型又はD型」を

「……L-型、D-型又はD-型」と訂正。

⑤ 明細書 34頁、12行

(タイプ序書 28頁、2行)

「……に対する溶解度……」を「……水に対する

溶解度……」と訂正。

⑥ 明細書 36頁、13~14行

(タイプ序書 29頁、13~14行)

「……はL体についてのみ起り、D体は……」

を「……はL-体についてのみ起り、D-体
は……」と訂正。

⑦ 明細書 38頁、9行

(タイプ序書 30頁、10行)

「はD-型の……」を「はD-型の……」と

訂正。

⑧ 明細書 57頁、2行

(タイプ序書 46頁、19行)

「……6275」を「……6275」を

手 続 捕 正 書

昭和53年 4月26日

特許庁長官 駒 谷 善 二 殿

1. 事件の表示

昭和52年特許第7,279号

2. 発明の名称

ジペブチド誘導体とアミノ酸誘導体との付加化合物及びその製造法

3. 捕正をする者

事件との関係 代表特許出願人

住所 郵便番号 746

山口県新南陽市大字宮田4560番地

名称 (530) 東洋電工株式会社

代表者 青木周吉

(通話先)

郵便番号 107

東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋電工株式会社 特許情報部

電話番号 東京(585)5311

4. 捕正命令の日付 自発捕正

5. ~~特許出願~~ 増加する発明の数 なし

6. 捕正の対象

明細書の発明の詳細を説明の欄

7. 捕正の内容

以下の通り、なお明細書の頁数及び行数は出願当初の明細書のそれを記載したが、この明細書は手書きによるものであり、昭和52年3月24日にそのタイプ清書を提出しているので、括弧内にタイプ清書の頁数及び行数を付記した。

(1) 明細書33頁, 13~14行

(タイプ清書27頁, 8行)の
「...硬衝剤...」を「...硬衝剤...」と訂正。

(2) 明細書39頁, 11行

(タイプ清書31頁, 14~15行)
「...D-アミノカルボン酸...」を
「...D-アミノカルボン酸エステル...」と訂正。

(3) 明細書60ページ, 11行

(タイプ清書49頁, 下から5行)
「...+7.8(...」を「...-15.1(...」
と訂正。